OBTENCIÓN DE LA ESTERILIDAD MASCULINA CITOPLASMÁTICA EN LA VARIEDAD DE TABACO NEGRO 'SANCTI SPIRITUS 2006'

Luisa Ana I. Pino Pérez, Guillermo Quintana Vara, Yoan Rodríguez Marrero, y Odelbis Carrazana Lorenzo
UCTB Estación Experimental del Tabaco. Carretera Santa Lucía km 2, Cabaiguán, Sancti Spíritus, Cuba
Email: mejoragenetica@eetcab.co.cu

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es la obtención de la androesterilidad masculina citoplasmática en la variedad de tabaco Negro cubana 'Sancti Spiritus 2006', a partir de un cruzamiento con líneas androestériles de tabaco obtenidas en Cuba. Se realizaron cruzamientos con la variedad de tabaco Negro y diferentes fuentes androestériles. Con la obtención de la F_1 se dio inicio a un programa de retrocruzamientos con la variedad progenitora fértil, como recurrente. En cada generación se seleccionaron aquellas plantas que mayor semejanza tenían con el progenitor fértil. En la generación R_6 se comparó la variedad androfértil y el análogo estéril. Se realizó un análisis estadístico mediante una comparación de medias de los valores obtenidos. Los resultados se evaluaron estadísticamente por t (Student). Se obtuvo el análogo con esterilidad masculina citoplasmática de la variedad de tabaco Negro `Sancti Spiritus 2006´.
Palabras claves: *Tabaco, androesterilidad*

ABSTRACT

OBTENTION OF THE MALE STERILITY IN 'SANCTI SPIRITUS 2006' DARK TOBACCO VARIETY

The objective of this work is the incorporation of the male cytoplasmic sterility to the 'Sancti Spiritus 2006' Cuban dark tobacco variety, starting from a crossing with lines male sterile tobacco lines obtained in Cuba. Crossings with a dark tobacco variety of and different male sterile sources were done. With the obtainment of the F1 it was possible to begin a back-crossing program with the fertile progenitor variety as recurrent. In each generation those plants with bigger similarity to the fertile progenitor were selected. In the R6 generation the fertile variety and the one sterile were compared. A statistical analysis by means of a comparison was carried out. The results were statistically evaluated by t (Student). A homologous with cytoplasmic male sterility of the`Sancti Spiritus 2006´ dark tobacco variety was obtained.
Key words: *Tobacco, male sterility*

INTRODUCCIÓN

El método convencional genético de cruzamiento y selección del tabaco en Cuba ha permitido la obtención de variedades homocigóticas mejor adaptadas a las condiciones actuales de cultivo de esta especie en el país. Sin embargo, la obtención de una variedad genéticamente establecida requiere de 10 años de trabajo y, por otra parte, se presenta la necesidad de explotar comercialmente de forma inmediata las combinaciones híbridas favorables para la producción tabacalera nacional. Estas razones requieren el uso de la androesterilidad citoplasmática, como una herramienta que facilita la producción de semilla híbrida más productiva desde el punto de vista comercial.

Una planta que posea los genes citoplasmáticos para la esterilidad masculina, puede ser fecundada por polen funcional proveniente de otras plantas; de no existir ese polen será estéril (Edlund *et al.*, 2004; Esser, 2006).

Hay varios tipos diferentes de esterilidad masculina citoplasmática (EMC), como son: corola normal con anteras modificadas en forma de plumillas (*Nicotiana bigelovii*); corola normal con anteras de tipo estigmatoide y filamentos cortos (*Nicotiana megalosiphon* y *Nicotiana suaveolens*); corola corta con anteras aparentemente normales, pero carentes de polen viable, filamentos cortos y estigma que sobresale ligeramente de los labios de la corola (*Nicotiana plumbaginifolia*); corola acortada con anteras petaloides modificadas y estigma que sobresale de (1 - 1.5) cm de los labios de la corola (*Nicotiana undulata*) y corola partida o hendida con anteras estigmatoides sobre filamentos cortos (*Nicotiana debneyi*) (Nikova y Vladova, 2002; Lewis, 2006 y Nikova *et al*. ,2007).

Clayton (1950) obtuvo un tipo de esterilidad masculina citplasmática, incorporando el núcleo de *Nicotiana tabacum* L. a la *N. debneyi y N megalosiphon*, Izard e Hitier (I995) lo hicieron con la *N. suaveolens* y Chaplin (1959), con la *N. bigelovii*. Según estos autores, los factores nucleicos de *Nicotiana tabacum* rigen el desarrollo normal del órgano reproductor masculino y la morfología de la flor, pero su eficacia es modificada cuando ellos interactúan con los factores citoplásmicos de otras especies del género Nicotiana, lo que determina que se exprese el carácter de EMC.

En el género Nicotiana se ha utilizado la esterilidad masculina con herencia estrictamente materna, para facilitar la producción de semilla híbrida de tabaco, fundamentalmente para comercializar híbridos F1 con el uso de la heterosis. (Rey, 1987). En los híbridos F 1 de tabaco se pueden combinar los caracteres económicos favorables y la resistencia a enfermedades, presentes en variedades diferentes. Otra función de estos análogos de variedades comerciales es ayudar a mantener la pureza y calidad de la semilla al impedir que esta sea producida por personal no autorizado (Eckardt, 2006).

En Cuba, en el Instituto de Investigaciones del Tabaco, se han obtenido análogos androestériles de algunas variedades de tabaco Negro como la 'Habana 92' y 'Habana 2000' (López *et al*, 2004), la 'P-1-6' y ' Cab 7' (Pino *et al*, 1990) y la 'SS-96' (Pino, 2007).

El presente trabajo tiene como objetivo la incorporación de la esterilidad masculina citoplasmática a la variedad de tabaco Negro cubana 'Sancti Spiritus 2006', a partir de un cruzamiento con líneas androestériles de tabaco obtenidas en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para lograr el homólogo androestéril de la variedad de tabaco 'Sancti Spiritus 2006', se utilizó el método de retrocruzamiento,

(Harlan y Pope, 1922). En la cosecha 2006-07 se realizaron cruzamientos con la fuente androestéril de *N. bigelovi,* especie que presenta las flores con corola normal y anteras modificadas en forma de plumillas. Considerando la característica esencial de la androesterilidad de transmitirse de forma continua de generación en generación siempre que haya un individuo polinizador, a partir de la F_1 (cosecha 2007-08), se dio inicio a un programa de retrocruzamientos con la variedad seleccionada. Se desarrollaron las diferentes generaciones hasta obtener la $R_{6,}$ en la cosecha de 2009-10. En cada generación se seleccionaron aquellas plantas que mayor semejanza tenían con la variedad 'Sancti Spiritus 2006' (progenitor recurrente) y que fueran estériles.

Posteriormente se plantaron las poblaciones R_6 de la fuente androestéril utilizada y la variedad androfértil, para compararlas entre sí. Para ello se plantó una parcela de 300 plantas por cada variedad. La distancia de plantación fue de 0.90 m entre hileras y 0.30 m entre plantas (MINAG, 2001).

En cada parcela se tomaron 30 plantas al azar y se evaluaron las características morfológicas siguientes: altura de la planta (cm), grosor del tallo (cm), longitud y anchura de la hoja mayor (cm), distancia entre nudos (cm), días para florecer, número de hojas botánicas y número de hojas útiles, por la metodología de Torrecilla *et al*. (1980).

La tecnología para el desarrollo de la plantación del tabaco para esta fase de la investigación se realizó según MINAG (2001).

Los resultados fueron evaluados estadísticamente por t (Student) con nivel de significación de 5 % (Sigarroa, 1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se exponen los resultados de las evaluaciones morfológicas de la variedad fértil 'Sancti Spiritus 2006´ (MF) y su análogo androestéril, con anteras modificadas en forma de plumillas.

Tabla 1. Comparación de las características morfológicas evaluadas, entre la variedad androestéril y la fértil (R_6)

Variedades	*Altura planta (cm)*	*Hoja mayor(cm)*		*Promedio de hojas botánicas*	*Promedio de hojas útiles*	*Grosor del tallo (cm)*	*Distancia entre nudos (cm)*	*Días para florecer*
		Longitud	*Anchura*					
´SS-2006´(MF)	*150.70*	*47.93*	*24.74*	*20.86*	*18.03*	*1.65*	*4.74*	*55.33*
ME(P)	*149.43*	*47.55*	*23.98*	*19.23*	*16.30*	*1.68*	*4.82*	*56.04*
ME(P)vs(MF)	*NS*	*N S*	*N.S.*	*N.S.*	**	*N.S.*	*N.S.*	*N.S.*

ME(P) Macho estéril con anteras modificadas en forma de plumillas
MF Macho fértil

Como indica la tabla, existe bastante similitud entre la variedad fértil y su análogo estéril en el sexto retrocruce (R_6).

Se observa que los valores de los caracteres morfológicos evaluados, como son altura de la planta, longitud y anchura de la hoja mayor, número de hojas botánicas, grosor del tallo, distancia entre nudos y días para florecer, no guardan diferencia significativa entre el androestéril con anteras en forma de plumillas y el androfértil ('Sancti Spiritus 2006´). Sin embargo, en el parámetro número de hojas botánicas, existe diferencia significativa entre esas variedades.

Al existir gran semejanza entre la variedad y su análogo androestéril, se demuestra que no fue necesario llegar a la R_9 para lograr la generación completa del genoma de *N. tabacum*, como considera Tsikova (1974), por tanto, no existe efecto negativo del genotipo de esta variedad ante el citoplasma de Nicotiana, especie que se utilizó para incorporar la androesterilidad.

El efecto depresivo, producto de la interacción del citoplasma extraño con el núcleo de esta variedad, trae como consecuencia que aún exista un valor que se encuentra afectado significativamente con respecto a la variedad fértil, según plantean Hanson y Bentolila (2004).

Rey y Espino (1985), Pino *et al.* (1999) y Pino (2007) en trabajos similares, valoraron que en el cuarto retrocruce (R4), las líneas estudiadas presentaron bastante similitud con las variedades originales, aunque también observaron diferencias entre las variedades androfértiles y sus análogos estériles.

También Horlow *et al.* (1996) y Lawson *et al.* (2002), lograron líneas androestériles, al utilizar el método convencional de retrocruces, que conservaron las buenas características de rendimiento y calidad de su progenitor femenino.

CONCLUSIÓN

• Se obtuvo el análogo androestéril de la variedad de tabaco negro ‘Sancti Spiritus 2006’.

BIBLIOGRAFÍA

Chaplin, J. F.: Interspecifc hibridization, genetransfer and chromosomal substitution in *Nicotiana Theses*, North Carolina State college, Raleigh, 1959.

Clayton, E. E.: Male-Sterile tobaccos, *J. Hered*, 41:171-175, 1950.

Eckardt, N. A.: Cytoplasmic male sterility and fertility restoration, *The Plant Cell,* 18(3):515-517, 2006.

Edlund, Anna, R. Swanson, Daphne Preuss: Pollen and stigma structure and function, *The plant cell*, 16:84-97, 2004.

Esser, Karl: Progress in Botany, Cytoplasmic male sterility and fertility in higher plants, *Springer*, 570 pp., 2006.

Hanson, M. R., S. Bentolila: Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development, *The Plant Cell*, June 1; 16 (suppl. 1):154-169, 2004.

Harlan, H. V. and M. M. Pope: The use and value of backcrosses in small grain breeding, *J. Hered*., 13: 319-322, 1922.

Horlow, C. R., J. C. Delón, L. Bordón, Salles de Hys, G. Pelletier: Le tranfert du caractere male estérile chez le tabac par androgenese in situ: interit de la méthode dans les programmes de selection, *Ann. du tabac*, *Selection* 2(28), 1-78, 1996.

Izard, C., H. Hitier: Observation on a complex hybrid capable of producing male-sterile plants, *Ann. Ist. Exp. Tob.,* Bergerac, 2(2):93-105, 1995.

Lawson, D. M., S. Schaeffer, E. Wernsman, M. T. Nielsen: A comparison of *Nicotiana suaveolens* and *Nicotiana glauca* cytoplasmic male sterility systems in flue-cured tobacco, *CORESTA Congress*, New Orleans, 2002, Agro-Phyto Groups, abstr., AP 11, 2002.

Lewis, R. S: Identification of germplasm of possible value for confronting an infavorable inverse genetic correlation in tobacco, *Crop Sci*,, 46:1764-1771, 2006.

López, María del C., H. García y E. Espino: Incorporación de la esterilidad masculina citoplasmática en las variedades comerciales de tabaco negro cubanas ‘Habana-92´ y ‘Habana-2000´, *Cuba Tabaco*, 5(1), 2004.

MINAG, Ministerio de la Agricultura, Cuba: *Manual técnico para el cultivo del tabaco negro al sol, recolectado en hojas y en mancuernas*, 27 pp., Ed. AGRINFOR, La Habana, 2001.

Nikova V., R. Vladova: Wild *Nicotiana* species as a source of cytoplasmic male sterility in *Nicotiana tabacum*, *Beitr, Tabakforsch. Int*. /*Contributions to Tobacco Research*, 20-4, pp. 301-11, 2002.

Nikova, V., E. Nikolov, A. Lancheva, R. Pandeva y A. Petkova: Hybrid seed production in tobacco by using male sterile plants, *CORESTA,* CD-ROM, Versión 23, January, 2007.

Pino, Luisa Ana, G. Quintana, E. Espino *et al*.: Homólogo androestéril de la variedad de tabaco 'Cab-7', *TTT* 7 (2):2-3,1990.

Pino, Luisa Ana, G. Quintana, P. Alfonso *et al.*: Nueva variedad de tabaco negro resistencia al moho azul (*P.tabacina*) para cultivo en las provincias centrales y orientales, *Cuba Tabaco,* 1(1): 62-65,1999.

Pino, Luisa Ana: 'Sancti Spiritus 96' Variedad de tabaco Negro resistente al moho azul (*Peronospora hyoscyami* de Bary f. sp. *tabacina*), a la pata prieta (*Phytophthora nicotianae*), al virus del mosaico del tabaco (TMV) y su homólogo androestéril. Tesis para optar por el título de Doctora en Ciencias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, 2007.

Rey, Xiomara: El uso de la androesterilidad citoplasmática en el cultivo del tabaco. *Boletín de Reseñas, Tabaco*, CIDA, 1987.

Rey, Xiomara, E. Espino: Obtención de análogos androestériles de variedad de tabaco cubanas (*N. tabacum*), *Cienc. Téc. Agric., Tabaco,* 8(1):55-61,1985.

Sigarroa, A.: Biometría y diseño experimental, 734 pp., Ed. Pueblo y Educación, Ciudad de La Habana, 1985.

Torrecilla, G., Luisa Pino, P. Alfonso, A. Barroso: Metodología para las mediciones de los caracteres cualitativos de la planta de tabaco, *Cienc. Téc. Agric. Tabaco,* 3(1):21-61, 1980.

Tsikova, E.: Cytological investigation of cytoplasmic male-sterility in *Nicotiana* v. Bc3-Bc9 from a cross of 4n *Nicotiana debneyi* x *N. tabacum with N. tabacum*, *Genet. Sel.* 7(4):311-321,1974.